

Docket No.: 61352-059

PATENT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of : Customer Number: 20277
Yamashita Ichiro : Confirmation Number:
Serial No.: : Group Art Unit:
Filed: December 5, 2003 : Examiner:
For: METHOD OF PRODUCTION OF NANOPARTICLE AND NANOPARTICLE
PRODUCED BY THE METHOD OF PRODUCTION

**CLAIM OF PRIORITY AND
TRANSMITTAL OF CERTIFIED PRIORITY DOCUMENT**

Mail Stop Patent Application
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

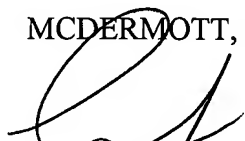
Sir:

In accordance with the provisions of 35 U.S.C. 119, Applicant hereby claims the priority of:
Japanese Patent Application No. 2002-154778, filed May 28, 2002

A Certified copy is submitted herewith.

Respectfully submitted,

MCDERMOTT, WILL & EMERY



Michael E. Fogarty
Registration No. 36,139

600 13th Street, N.W.
Washington, DC 20005-3096
(202) 756-8000 MEF:prg
Facsimile: (202) 756-8087
Date: December 5, 2003

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

61352-059
Dec. 5, 2003
Yamashita
McDermott, Will & Emery

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 5 月 2 8 日
Date of Application:

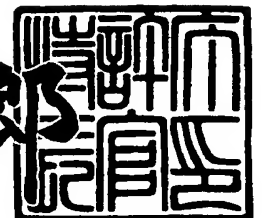
出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 1 5 4 7 7 8
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 2 - 1 5 4 7 7 8]

出 願 人 松 下 電 器 産 業 株 式 会 社
Applicant(s):

2 0 0 3 年 7 月 1 0 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 5 6 4 2 3

【書類名】 特許願

【整理番号】 2033840009

【提出日】 平成14年 5月28日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 H01L 29/00

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

【氏名】 山下 一郎

【特許出願人】

【識別番号】 000005821

【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社

【代理人】

【識別番号】 100077931

【弁理士】

【氏名又は名称】 前田 弘

【選任した代理人】

【識別番号】 100094134

【弁理士】

【氏名又は名称】 小山 廣毅

【選任した代理人】

【識別番号】 100110939

【弁理士】

【氏名又は名称】 竹内 宏

【選任した代理人】

【識別番号】 100110940

【弁理士】

【氏名又は名称】 嶋田 高久

【選任した代理人】

【識別番号】 100113262

【弁理士】

【氏名又は名称】 竹内 祐二

【選任した代理人】

【識別番号】 100115059

【弁理士】

【氏名又は名称】 今江 克実

【選任した代理人】

【識別番号】 100115510

【弁理士】

【氏名又は名称】 手島 勝

【選任した代理人】

【識別番号】 100115691

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤田 篤史

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 014409

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0006010

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ナノ粒子、その製造方法およびナノ粒子-タンパク質複合体

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 2 種類以上のイオンの化合物からなるナノ粒子であって、タンパク質の空洞部内における上記 2 種類以上のイオンの反応によって形成されたことを特徴とするナノ粒子。

【請求項 2】 請求項 1 に記載のナノ粒子において、上記 2 種類以上のイオンのうちの少なくとも 1 つは、錯イオンを形成することを特徴とするナノ粒子。

【請求項 3】 請求項 1 または 2 に記載のナノ粒子において、上記化合物は、化合物半導体であることを特徴とするナノ粒子。

【請求項 4】 請求項 3 に記載のナノ粒子において、上記化合物は、CdSe、ZnSe、CdS および ZnS からなる群から選択される少なくとも 1 つの化合物半導体から形成されていることを特徴とするナノ粒子。

【請求項 5】 2 種類以上のイオンの化合物からなるナノ粒子の製造方法であって、

内部に空洞部を有するタンパク質と、2 種類以上のイオンとを含む溶液を調製することによって、上記タンパク質の上記空洞部内で上記 2 種類以上のイオンを反応させる工程を含むナノ粒子の製造方法。

【請求項 6】 請求項 5 に記載のナノ粒子の製造方法において、上記 2 種類以上のイオンのうちの少なくとも 1 つは、上記溶液中において配位子を備えていることを特徴とするナノ粒子の製造方法。

【請求項 7】 請求項 5 または 6 に記載のナノ粒子の製造方法において、上記化合物は、化合物半導体であることを特徴とするナノ粒子の製造方法。

【請求項 8】 請求項 7 に記載のナノ粒子の製造方法において、上記溶液は、Cd²⁺またはZn²⁺と、セレン化物イオンまたは硫化物イオンとを含むことを特徴とするナノ粒子の製造方法。

【請求項 9】 ナノ粒子とタンパク質とから構成されるナノ粒子-タンパク

質複合体であって、

上記タンパク質は、上記ナノ粒子を保持可能な保持部と、上記保持部と上記タンパク質の外部とを結ぶチャネルとを備え、

上記ナノ粒子は、CdSe、ZnSe、CdSおよびZnSからなる群から選択される少なくとも1つの化合物半導体から形成されていることを特徴とするナノ粒子-タンパク質複合体。

【請求項10】 請求項9に記載のナノ粒子-タンパク質複合体において、上記タンパク質は、アポフェリチン、Dpsタンパク質、CCMVまたはTMVのうちのいずれか1つであることを特徴とするナノ粒子-タンパク質複合体。

【請求項11】 請求項9または10に記載のナノ粒子-タンパク質複合体において、

上記タンパク質は、特定のタンパク質に特異的に結合する部分を備えていることを特徴とするナノ粒子-タンパク質複合体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ナノメートルサイズの粒径を有する粒子（以下、ナノ粒子と称する）に関する。

【0002】

【従来の技術】

これまでの機能材料開発の主流は、所望の機能を発現させる新規化合物の探索、合成によって行なわれている。しかしながら、近年は、物質をナノメートルサイズまでに微細化したナノ粒子を作製することで、バルク状態では得られない新機能を発現させることが望まれるようになってきている。特に、半導体や金属化合物を中心とする無機材料のナノ粒子化が強く望まれている。

【0003】

化合物半導体であるCdSeおよびZnSe等からなる半導体ナノ粒子は、量子効果が期待されている。具体的には、CdSeおよびZnSeの半導体ナノ粒子の蛍光波長は、粒子のサイズ（粒径）によって変化する。従って、上記半導体

ナノ粒子は、発光素子、蛍光素子として注目されている。このような半導体ナノ粒子の量子効果を工学的に利用するためには、粒径が均一なナノ粒子を作製することが必要となる。

【0004】

従来、ナノ粒子を作製する方法は、物理的粉碎法および化学的合成法などによって行なわれている。例えば、物理的粉碎法は、セラミックスを焼成する際の出発材料を得るために広く用いられている。また、化学的合成法としては、長鎖の有機化合物の間で、塩化金酸を還元することによって金のナノ粒子を作製する方法などがある。ここで、長鎖の有機化合物は、金粒子が成長して巨大化することを阻害している。

【0005】

また、有機化合物とナノ粒子との複合体を作り、化学反応させて均一な粒子を作る方法もある。この応用としては、SAM膜を形成するための材料に金原子を固定し、上記材料を金原子を中心にして集合させることによって、表面にSAM膜が形成された金のナノ粒子を得る方法もある。さらに、ナノ粒子を形成する材料を含むミセルをつくり、ミセル中での化学反応を用いてナノ粒子を作製することも行われている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上述の従来の方法では粒径が均一なナノ粒子を得ることは難しい。例えば、物理的粉碎法では、そもそも粒径をミクロンサイズよりも小さくすることが困難であり、ナノメートルオーダーに近づいたとしても粒径を一定にするメカニズムがない。このため、得られるナノ粒子の粒径には必然的に大きなバラツキが生じる。また、化学的合成法では、化学反応を利用しているため、これもまた得られるナノ粒子の粒径には必然的に大きなバラツキが生じる。

【0007】

本発明は、上記不具合を解決するためになされたものであり、ナノ粒子の粒径のバラツキを低減し、粒径が均一なナノ粒子を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明のナノ粒子は、2種類以上のイオンの化合物からなるナノ粒子であって、タンパク質の空洞部内における上記2種類以上のイオンの反応によって形成されたものである。

【0009】

タンパク質はDNA情報から作製され、公知の方法で多数複製することは容易である。また、同じDNAから多数複製されたタンパク質が、オングストロームの精度で同じ構造であることは周知である。このため、同じDNAから複製されたタンパク質が有する空洞部は、全て同じ形状である。従って、本発明のナノ粒子は、粒径がタンパク質の空洞部により規定されるので、粒径が均一となる。

【0010】

上記2種類以上のイオンのうちの少なくとも1つは、錯イオンを形成することが好ましい。

【0011】

このことによって、反応するイオンの1つが錯イオンとなって安定化し、反応が急速に進行することを抑制する。その結果、各イオンがタンパク質の空洞内に到達する前に、溶液中で反応が完結することを防止できる。従って、タンパク質の空洞部内で優先的に各イオンを反応させることができる。

【0012】

上記化合物は、化合物半導体であってもよい。

【0013】

上記化合物は、CdSe、ZnSe、CdSおよびZnSからなる群から選択される少なくとも1つの化合物半導体から形成されていることが好ましい。

【0014】

CdSe、ZnSe、CdSおよびZnS等の化合物半導体からなるナノ粒子は、内部の電子のエネルギー準位が量子化されており、蛍光波長がその粒径に応じて変化する。本発明のナノ粒子は粒径が均一であるので、均一な蛍光波長の光（すなわち蛍光色）が得られる。従って、ナノ粒子を工学的に利用しやすい。

【0015】

本発明のナノ粒子の製造方法は、2種類以上のイオンの化合物からなるナノ粒子の製造方法であって、内部に空洞部を有するタンパク質と、2種類以上のイオンを含む溶液を調製することによって、上記タンパク質の上記空洞部内で上記2種類以上のイオンを反応させる工程を含む。

【0016】

タンパク質はDNA情報から作製され、公知の方法で多数複製することは容易である。また、同じDNAから多数複製されたタンパク質が、オングストロームの精度で同じ構造であることは周知である。このため、同じDNAから複製されたタンパク質が有する空洞部は、全て同じ形状である。従って、本発明によれば、ナノ粒子の粒径がタンパク質の空洞部により規定されるので、粒径が均一なナノ粒子が容易に得られる。

【0017】

上記2種類以上のイオンのうちの少なくとも1つは、上記溶液中において配位子を備えていることが好ましい。

【0018】

このことによって、反応するイオンの1つが錯イオンとなって安定化し、反応が急速に進行することを抑制する。その結果、各イオンがタンパク質の空洞内に到達する前に、溶液中で反応が完結することを防止できる。従って、タンパク質の空洞部内で優先的に各イオンを反応させることができる。

【0019】

上記溶液は、 Cd^{2+} または Zn^{2+} と、セレン化物イオンまたは硫化物イオンを含むことが好ましい。

【0020】

このことによって、 $CdSe$ 、 $ZnSe$ 、 CdS および ZnS 等の化合物半導体からなり、粒径が均一なナノ粒子が得られる。つまり、励起光を照射することによって、放出される光の蛍光波長が均一なナノ粒子が得られる。

【0021】

本発明のナノ粒子-タンパク質複合体は、ナノ粒子とタンパク質とから構成されるナノ粒子-タンパク質複合体であって、上記タンパク質は、上記ナノ粒子を

保持可能な保持部と、上記保持部と上記タンパク質の外部とを結ぶチャンネルとを備え、上記ナノ粒子は、CdSe、ZnSe、CdSおよびZnSからなる群から選択される少なくとも1つの化合物半導体から形成されている。

【0022】

タンパク質はDNA情報から作製され、公知の方法で多数複製することは容易である。また、同じDNAから多数複製されたタンパク質が、オングストロームの精度で同じ構造であることは周知である。このため、同じDNAから複製されたタンパク質が有する保持部は、全て同じ形状である。従って、保持部に保持されるナノ粒子は、粒径がタンパク質の保持部により規定されるので、粒径が均一となる。このため、例えば本発明のナノ粒子-タンパク質複合体を基板上に配置し、タンパク質部分を除去する等の操作を行なうことにより、基板上にナノ粒子からなる微細なドット体を形成することができる。このドット体は、例えば不揮発性メモリのフローティングゲートに利用することができる。

【0023】

上記タンパク質は、アポフェリチン、Dpsタンパク質、CCMVまたはTMVのうちのいずれか1つであってもよい。

【0024】

上記タンパク質は、特定のタンパク質に特異的に結合する部分を備えていてもよい。

【0025】

このことによって、特定のタンパク質をナノ粒子-タンパク質複合体でラベルして蛍光観察することができるようになる。特に、本発明のナノ粒子-タンパク質複合体では、ナノ粒子の粒径が均一である。従って、ナノ粒子を保持する保持部の直径が異なる数種類のタンパク質と、蛍光を発するナノ粒子とを用いれば、数種類のタンパク質を数種類の蛍光波長の光に基づいて観察することができる。

【0026】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施形態を図面を参照しながら説明する。

【0027】

(実施形態1)

本実施形態では、均一な粒径のCdSeからなる半導体ナノ粒子を作製するために、 Cd^{2+} と Se^{2-} とをタンパク質の直径数ナノメートルの空洞内で反応させる。タンパク質としては、以下に示す条件を満たすものを用いることができる。

【0028】

まず第1に、一定の大きさの空洞を内部に有する。

【0029】

第2に、空洞の表面がプラスまたはマイナス電荷を有し、且つ外部に対して電位差を有する。

【0030】

第3に、空洞と外部とを結ぶチャンネルが存在する。

【0031】

第4に、チャンネルは、イオンが通過可能な大きさを有し、イオンの通過を妨げる障害を持たない。

【0032】

第5に、ナノ粒子を作製するための化学反応条件下で、十分安定である。

【0033】

上記第1から第5までの条件を満たすタンパク質は多数存在し、代表的なタンパク質として、アポフェリチン、Dpsタンパク質、ならびにウイルスタンパク質（例えば、CCMVおよびTMV等）などが挙げられる。

【0034】

本実施形態では、金属または金属化合物を保持する機能を有するタンパク質であるアポフェリチンを利用する。アポフェリチンは、生物界に広く存在するタンパク質であり、生体内では必須微量元素である鉄の量を調節する役割を担っている。鉄または鉄化合物とアポフェリチンとの複合体はフェリチンと呼ばれる。鉄は必要以上に体内に存在すると生体にとって有害であるため、余剰の鉄分はフェリチンの形で体内に貯蔵される。そして、フェリチンは必要に応じて鉄イオンを放出し、アポフェリチンに戻る。

【0035】

図1は、アポフェリチンの構造を示す模式図である。図1に示すように、アポフェリチン1は、1本のポリペプチド鎖から形成されるモノマーサブユニットが非共有結合により24個集合した分子量約46万の球状タンパク質であり、その直径は約12nmで、通常のタンパク質に比べ高い熱安定性と高いpH安定性を示す。アポフェリチン1の中心には直径約6nmの空洞状の保持部4があり、外部と保持部4とはチャンネル3を介してつながっている。例えば、アポフェリチン1に2価の鉄イオンが取り込まれる際、鉄イオンはチャンネル3から入り、一部のサブユニット内にあるferrooxidase center（鉄酸化活性中心）と呼ばれる場所で酸化された後、保持部4に到達し、保持部4の内表面の負電荷領域で濃縮される。そして、鉄原子は3000～4000個集合し、フェリハイドライト（ $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ）結晶の形で保持部4に保持される。保持部4に保持された金属原子を含むナノ粒子の粒径は、保持部4の直径とほぼ等しく、約6nmとなっている。

【0036】

このアポフェリチンを用いて、人工的に鉄以外の金属や金属化合物を保持させたアポフェリチン-ナノ粒子複合体も作製されている。

【0037】

現在までに、マンガン（P. Mackle, 1993, J. Amer. Chem. Soc. 115, 8471-8472; F. C. Meldrumら, 1995, J. Inorg. Biochem. 58, 59-68）、ウラン（J. F. Hainfeld, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 11064-11068）、ベリリウム（D. J. Price, 1983, J. Biol. Chem. 258, 10873-10880）、アルミニウム（J. Fleming, 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7866-7870）、亜鉛（D. Price and J. G. Joshi, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1982, 79, 3116-3119）、コバルト（T. Douglas and V. T. Stark, Inorg. Chem., 39, 2000, 1828-1830）といった金属あるいは金属化合物のアポフェリチンへの導入が報告されている。これらの金属あるいは金属化合物からなるナノ粒子の粒径も、アポフェリチンの保持部4の直径とほぼ等しく、約6nmとなる。

【0038】

自然界において、鉄原子を含むナノ粒子がアポフェリチン内に形成される過程の概略は次の通りである。

【0039】

アポフェリチン 1 の外部と内部とを結ぶチャネル 3 (図 1 参照) の表面には、 $\text{pH } 7 \sim 8$ の条件下でマイナス電荷を持つアミノ酸が露出しており、プラス電荷を持っている Fe^{2+} イオンは静電相互作用によりチャネル 3 に取り込まれる。

【0040】

アポフェリチン 1 の保持部 4 の内表面には、チャネル 3 の内表面と同じく、 $\text{pH } 7 \sim 8$ でマイナス電荷を持つアミノ酸残基であるグルタミン酸残基が多く露出しており、チャネル 3 から取り込まれた Fe^{2+} イオンはferroxidase centerで酸化され、内部の保持部 4 へと導かれる。そして、静電相互作用により鉄イオンは濃縮されて、フェリハイドライト ($5 \text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$) 結晶の核形成が起こる。

【0041】

その後、順次取り込まれる鉄イオンがこの結晶の核に付着して酸化鉄からなる核が成長し、粒径 6 nm のナノ粒子が保持部 4 内に形成される。以上が、鉄イオンの取り込みと酸化鉄からなるナノ粒子形成の概略である。

【0042】

なお、ここまで鉄イオンのアポフェリチンへの取り込みメカニズム及び酸化鉄を内包したアポフェリチンの調製法について述べたが、これまでに導入が報告されている他の金属イオンは、いずれもプラスイオンであることから、これらの金属イオンのアポフェリチンへの取り込みは、鉄イオンとほぼ同じメカニズムで進むと考えられる。従って、他の金属イオンも、基本的に鉄イオンと同様の操作によりアポフェリチン内に導入される。

【0043】

しかしながら、現在までに、アポフェリチンの保持部内でCdS以外の化合物半導体からなるナノ粒子(以下、半導体ナノ粒子と称する)を作製した例は報告されていない。また、アポフェリチンの保持部内でCdSからなるナノ粒子を作製した例が報告されているが、この例ではナノ粒子の収率が極めて悪い。

【0044】

次に、アポフェリチンを用いてCdSeからなる半導体ナノ粒子を作製する方

法を、図2を参照しながら具体的に説明する。図2は、本実施形態の半導体ナノ粒子の製造方法を表すフローチャートである。なお、以下に示す本実施形態の方法の全ての工程は、室温にて200mlスケールで実施される。また、特に記載のない限り、ここで用いる用語「溶液」は、溶媒として水を用いた溶液を意味する。

【0045】

まず、図2に示すように、ステップSt1において、50mg/mlのアポフェリチン溶液、100mMの酢酸カドミウム溶液、1Mの酢酸アンモニウム溶液、100mMのアンモニア水を用意する。また、少量のエタノール（10 μ l程度）にセレノ尿素を溶解させ、これを100mM濃度になるように純水を加えて100mMのセレノ尿素溶液を用意する。なお、セレノ尿素は水に溶解すると不安定であるので、次に述べる工程の直前にセレノ尿素溶液を調製する。

【0046】

次に、ステップSt2において、上記ステップSt1で用意した各溶液を混合し、全体の容量が200mlになるまで純水を加えることによって、反応溶液を調製する。上記の反応溶液におけるアポフェリチン、酢酸カドミウム、酢酸アンモニウム、セレノ尿素およびアンモニアの各濃度は、図3に示す通りとなっている。なお、図3は、ステップSt1およびステップSt2を表す模式図である。

【0047】

続いて、図3に示すように、反応溶液を攪拌しながら反応を進行させる。上記反応溶液では、調製した直後から反応が自発的に開始する。本実施形態では、さらに反応溶液の攪拌を一昼夜に亘って行なう。ここで生じる反応は急速ではないが、数分から数時間で完結する。このとき、起こっていると思われる反応については後述する。この操作により、アポフェリチンの保持部内にCdSeが導入され、アポフェリチンとCdSeからなる半導体ナノ粒子との半導体ナノ粒子ータンパク質複合体（以下、単に複合体と称する）が生成される。

【0048】

次に、ステップSt3において、反応溶液を容器に入れ、遠心分離機を用いて毎分3000回転、20分の条件で遠心分離し、沈殿を除去する。このとき、上

澄み液中には、複合体が分散された状態で存在している。

【0049】

次に、ステップ S t 4 において、沈殿を除去した後の上澄み液をさらに毎分 10000 回転、30 分の条件で遠心分離し、複合体を沈殿させる。

【0050】

次に、ステップ S t 5 において、上記ステップ S t 4 で得られた沈殿を 150 mM の NaCl 溶液に懸濁し、複合体溶液を作製する。ここでは、特に pH 調整を行わなくてもよい。

【0051】

以上のようにして、CdSe からなる半導体ナノ粒子を内包するアポフェリチン、すなわちアポフェリチンと CdSe からなる半導体ナノ粒子との複合体が得られる。

【0052】

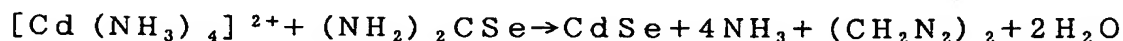
ここで、上記ステップ S t 2 において起こっていると思われる反応を図 4 を参照しながら説明する。図 4 は、ステップ S t 2 において起こっていると思われる反応を表す模式図である。なお、図 4 では、理解を容易にするために、図 1 に示すアポフェリチンをさらに単純化して示している。このため、図 4 においても、図 1 と共通の参照符号を用いている。

【0053】

上記ステップ 2 において、反応溶液中で起こっていると思われる反応は、次に示す式で表される。

【0054】

【化 1】



【0055】

図 4 に示すように、上記反応溶液の条件では、アンモニウムイオン (NH_4^+) が多数存在する条件となっている。このため、カドミウムイオン (Cd^{2+}) の大半は、錯イオンである $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ となって安定化する。従って、 $[\text{Cd}$

$(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ の濃度と Cd^{2+} の濃度との関係は、「 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ の濃度 $\gg \text{Cd}^{2+}$ の濃度」となっている。

【0056】

アポフェリチン1の保持部4の表面は、マイナス電荷に帯電しているため、 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ は、矢印Aに示すようにチャネル3を通して保持部4内に導入される。この結果、 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ が保持部4内で高濃度に濃縮される。

【0057】

セレノ尿素は電荷を持たないため、アポフェリチン1の保持部4内と外部とで均等に存在する。セレノ尿素は、室温で水に溶解すると、ゆっくりではあるが直ちに分解を始める。全ての分解には数時間かかり、 Se^{2-} が発生する。

【0058】

アポフェリチン1の保持部4内で発生した Se^{2-} は、高濃度に濃縮された $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ から供給される Cd^{2+} が存在するため、直ちに反応して CdSe が析出し、結晶化する。

【0059】

Cd^{2+} および Se^{2-} は、 CdSe になると水に不溶性であるため可逆的にイオン化することはない。このため、アポフェリチン1の保持部4内では、溶液中の $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ およびセレノ尿素の濃度が低下する。従って、アポフェリチン1の保持部4内と外部とで濃度勾配が生じ、外部に存在する $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ およびセレノ尿素が、矢印AおよびBに示すように、チャネル3を通してアポフェリチン1の保持部4内に導入される。アポフェリチン1の保持部4内では、 $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ およびセレノ尿素からの Cd^{2+} および Se^{2-} の供給が終わるまで、 CdSe の生成反応が繰り返される。

【0060】

一方、アポフェリチン1の外部では、反応開始時点から Cd^{2+} が非常に少ないので、発生した Se^{2-} が Cd^{2+} と反応する速度は非常に遅い。従って、アポフェリチン1の外部では、 CdSe がほとんど生成しない。

【0061】

なお、セレノ尿素は反応の直前に水に溶解させているが、水中ではセレノ尿素

は不安定で、その結果反応溶液を調製すると同時にセレノ尿素のセレン原子が電離し、反応溶液中に Se^{2-} が供給されると考えられる。このため、本実施形態では、アポフェリチン 1 の保持部 4 内で Se^{2-} が不足しないように、 Se^{2-} が Cd^{2+} の 5 倍量となるように、セレノ尿素を過剰に添加している。

【0062】

ここで、本実施形態のステップ S t 1 において、アンモニア溶液の添加量を変えて、 CdSe のナノ粒子を形成させ、ステップ S t 2 の直後に反応溶液を電子顕微鏡で観察した様子を図 5 (a) ~ (c) に示す。図 5 (a) ~ (c) は、反応溶液に添加するアンモニア溶液を調節し、反応溶液中でのアンモニア (NH_3) の濃度をそれぞれ 0 mM、0.5 mM および 1.0 mM としたときのナノ粒子の形成状態を表す電子顕微鏡写真である。なお、酢酸アンモニウムから解離するアンモニアはごく微量であり、ここで示すアンモニアの濃度にはほとんど影響しないと考えられる。 CdSe の半導体ナノ粒子は、代表的には、図 5 (a)、(b) および (c) 中の白抜きの矢印で示されている。

【0063】

図 5 (a) ~ (c) に示すように、 CdSe の半導体ナノ粒子の形成は、アンモニアの濃度に依存しており、アンモニアの濃度が 0.5 mM である場合にナノ粒子の形成が最も良好である。

【0064】

図 5 (a) に示す反応溶液は pH 6.6 であり、図 5 (b) に示す反応溶液は pH 7.4 であり、図 5 (c) に示す反応溶液は pH 7.9 である。従って、アンモニウムイオンは、 Cd^{2+} に配位して安定化すると同時に、緩衝剤の入っていない反応溶液を高 pH に保ち、 CdSe が析出しやすくする働きもあると考えられる。このため、反応溶液の pH は、pH 7.0 以上 7.8 以下の範囲内に保つことが好ましい。

【0065】

以上のような反応機構が想定されることから、それぞれの化学物質の混合比率は、アポフェリチンの分子数を 1 として、表 1 に示す範囲内の分子数であることが望ましいと考えられる。

【0066】

【表1】

分子	混合比率（分子数比）
アポフェリチン	1
酢酸カドミウム	100～10000
酢酸アンモニウム	5000～500000
セレノ尿素	500～50000
アンモニア	10～2000

【0067】

以上に述べた製造方法によって、アポフェリチン内に優先的にCdSeからなる半導体ナノ粒子を形成することができる。

【0068】

アポフェリチンを含めて、タンパク質はDNA情報から作製され、公知の方法で多数複製することは容易である。また、同じDNAから多数複製されたタンパク質が、オングストロームの精度で同じ構造であることは周知である。このため、本実施形態で用いるアポフェリチンが有する空洞状の保持部は、全て同じ形状である。

【0069】

従って、本実施形態のように、タンパク質の内部で化学反応によって半導体ナノ粒子を作製すれば、半導体ナノ粒子の粒径がタンパク質により規定されるので、粒径が均一な半導体ナノ粒子が得られる。

【0070】

なお、本実施形態ではタンパク質としてアポフェリチンを用いたが、アポフェリチンの代わりにDpsタンパク質（直径9nmであり、内部に直径4nmの保持部を有する球殻状タンパク質）を用いれば、粒径が4nmの半導体ナノ粒子を作製することができる。さらに、アポフェリチンの代わりにCCMVおよびTMV等のウイルスタンパク質などを用いても、それぞれのタンパク質が有する内部の保持部の形状に応じた半導体ナノ粒子を作製することができる。

【0071】

また、本実施形態では、CdSeからなる半導体ナノ粒子を作製する場合について説明したが、例えばZnSe、CdSおよびZnS等からなる半導体ナノ粒子を作製する場合にも、本実施形態とほぼ同じ方法を適用することができる。

【0072】

例えば、ZnSeからなる半導体ナノ粒子を作製する場合、本実施形態で用いた酢酸カドミウム溶液の代わりに、酢酸亜鉛溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、本実施形態に述べた通りである。

【0073】

また、CdSからなる半導体ナノ粒子を作製する場合、本実施形態で用いたセレン尿素溶液の代わりに、チオ尿素溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、本実施形態に述べた通りである。

【0074】

ZnSからなる半導体ナノ粒子を作製する場合、酢酸カドミウム溶液の代わりに酢酸亜鉛溶液を、セレン尿素溶液の代わりにチオ尿素溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、本実施形態に述べた通りである。

【0075】

また、FePtおよびCoPtからなるナノ粒子を作製する場合にも、本実施形態とほぼ同じ方法を適用することができる。

【0076】

FePtからなるナノ粒子を作製する場合、本実施形態で用いた酢酸カドミウム溶液の代わりに硫酸アンモニウム鉄溶液を、セレン尿素溶液の代わりに K_2PtCl_4 溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、本実施形態に述べた通りである。

【0077】

CoPtからなるナノ粒子を作製する場合、具体的には、本実施形態で用いた酢酸カドミウム溶液の代わりに酢酸コバルト溶液を、セレン尿素溶液の代わりに K_2PtCl_4 溶液を反応溶液中に混合する。他の条件は、本実施形態に述べた通りである。

【0078】

以下の実施形態では、本実施形態において作製されたナノ粒子およびナノ粒子-タンパク質複合体の利用例を説明する。

【0079】

(実施形態2)

CdSe、ZnSe、CdSおよびZnS等からなる半導体ナノ粒子は、内部の電子順位が量子化されており、蛍光波長がその粒径で変化することが示されている。そこで、図6(a)および(b)に示すように、異なる粒径の半導体ナノ粒子を細胞のアクチンフィラメントと核とにそれぞれ結合させておき、単一の波長で励起することによって、異なる蛍光色を発現させ、簡単に細胞中の2つのタンパク質の移動や位置を観察する方法が報告されている(R. F. Seville, Science, 281巻、1998年、1930~1931ページ、M. Bruchez Jr. ら、Science, 281巻、1998年、2013~2016ページ、およびW. C. W. Chanら、Science, 281巻、1998年、2016~2018ページ)。

【0080】

これまで細胞などの蛍光観察にはローダミンなどの蛍光染色剤が用いられていた。しかし、ローダミンなどの蛍光染色剤は蛍光そのものが弱く、しかも数秒でクエンチングと呼ばれる蛍光退色が起こり発光しなくなる。また、ローダミンなどの蛍光染色剤では、蛍光が赤方(長波長側)への伸び(レッドテイリングと呼ばれる)、他の蛍光染色剤の蛍光領域まで進入して、クロストークが発生する。さらに、蛍光を観察するために照射する励起光波長と、蛍光染色剤からの蛍光波長との差が数十nm程度であるため、急峻な波長フィルターが必要である。このため、蛍光染色剤の数だけ励起光装置と波長フィルターとが必要となって蛍光観察装置(例えば、蛍光顕微鏡)の構成が複雑となる。蛍光観察装置の構成が複雑になると、光量の確保が難しくなり、明るいレンズが必要となる。従って、蛍光観察装置の設計が難しくなり、蛍光観察装置の値段もきわめて高価となる。

【0081】

しかし、上記の報告で説明されている、異なる粒径のCdSeからなるナノ粒

子を用いた蛍光観察では、励起光として蛍光波長から離れた短波長側の1つ波長の光（例えば紫外線）を用いればよい。蛍光の色は、CdSeからなるナノ粒子の粒径で決まるので、レッドテイリングが無く、フィルターも不要となり、蛍光観察装置の構成が簡単になる。従って、光量の確保が容易になり、簡単で安価な蛍光顕微鏡を用いても、鮮明な蛍光観察が可能になる。

【0082】

つまり、数種類の粒径毎に、粒径が均一なCdSeの半導体ナノ粒子が得られれば、きわめて安価に細胞内のタンパク質をラベルして蛍光観察することができるようになる。

【0083】

しかしながら、従来の物理的粉碎法や化学合成法などでは、作製されたCdSeおよびZnSeの半導体ナノ粒子の粒径が一定でなく、様々な蛍光波長の粒子が混在してしまう。従って、従来の物理的粉碎法や化学合成法などで作製された半導体ナノ粒子を蛍光ラベル用として、そのまま使用できない。このため、上記の報告では、CdSeおよびZnSeの半導体ナノ粒子を蛍光ラベル材料として使用するために、ナノメートルオーダーの粒径によって分離する精密な精製工程が必要となっている。従って、半導体ナノ粒子の量産性が非常に低く、蛍光観察するためのコストも非常に高い。

【0084】

また、従来の方法による半導体ナノ粒子の作製時には、半導体ナノ粒子の表面が被覆されていないので、分散および凝集を制御することが難しい。これを回避するために、上記の報告では、半導体ナノ粒子の表面を有機材料でコーティングすることが提案されている。しかしながら、半導体ナノ粒子の表面を有機材料でコーティングするための工程が更に追加されるので、更に半導体ナノ粒子の量産性が低く、蛍光観察するための製造コストも非常に高くなる。

【0085】

一方、上記実施形態1で得られる半導体ナノ粒子は、粒径が均一である。従って、半導体ナノ粒子を保持する保持部の直径が異なる数種類のタンパク質を用いれば、数種類の粒径毎に、粒径が均一であるCdSeの半導体ナノ粒子が容易に

得られ、半導体ナノ粒子を粒径によって分離する精密な精製工程が不要となる。従って、きわめて安価に細胞内のタンパク質をラベルして蛍光観察することができるようになる。

【0086】

さらに、上記実施形態1で得られる半導体ナノ粒子-タンパク質複合体では、タンパク質の表面にはアミノ酸残基が露出している。表面に露出しているアミノ酸残基は、組み換えなどの遺伝子工学的な手法で改変することが可能である。このことによって、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体の表面の任意の位置に、正や負の電荷を帯びさせる、あるいは疎水性または親水性を付与することが可能となる。従って、半導体ナノ粒子の表面を有機材料等でコーティングすることなく、半導体ナノ粒子の分散および凝集を制御することができる。

【0087】

また、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体において、タンパク質の一部のアミノ酸を化学修飾することによって、他のタンパク質と相互作用させることができる。具体的には、図7を参照しながら説明する。図7(a)および(b)は、抗体を利用して半導体ナノ粒子-タンパク質複合体でタンパク質をラベルする方法を表す模式図である。

【0088】

半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C1は、図7(a)に示すように、Dpsタンパク質11とCdSeの半導体ナノ粒子14aとからなる複合体である。Dpsタンパク質11の表面には、タンパク質Xを特異的に認識する抗体I_xのうちの、タンパク質Xに結合しない側の末端(H鎖のC末端)が結合されている。

【0089】

半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C2は、図7(b)に示すように、アポフェリチン1とCdSeの半導体ナノ粒子4aとからなる複合体である。アポフェリチン1の表面には、タンパク質Yを特異的に認識する抗体I_yのうちの、タンパク質Yに結合しない側の末端(H鎖のC末端)が結合されている。

【0090】

つまり、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C1およびC2は、2種類の異な

る粒径毎に、粒径が均一なCdSeの半導体ナノ粒子を内包している。また、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C1は、タンパク質Xに特異的に結合し、半導体ナノ粒子-タンパク質複合体C2は、タンパク質Yに特異的に結合する。従って、単一の波長の励起光（例えば紫外線）を照射することによって、タンパク質XおよびY毎に異なる蛍光色を発現させ、簡単に細胞中の2つのタンパク質の移動や位置を観察することができる。

【0091】

以上に述べたように、上記実施形態1で得られる半導体ナノ粒子-タンパク質複合体は、半導体ナノ粒子がタンパク質で覆われる構成となっているので、タンパク質を改変することによって、蛍光を利用した生体の観察に利用することが容易である。

【0092】

なお、本実施形態では、蛍光材料としてCdSeの半導体ナノ粒子を用いた例を説明をしたが、その他の蛍光材料（ZnSe、CdSおよびZnS等）を用いても、当然同じ効果が得られる。

【0093】

（実施形態3）

本実施形態では、上記実施形態1において作製されたナノ粒子-タンパク質複合体を利用して形成されるドット体をフローティングゲートとして含む不揮発メモリセルについて説明する。

【0094】

図8（a）～図8（d）は、本実施形態の不揮発性メモリセルの製造方法を示す工程断面図である。

【0095】

まず、図8（a）に示す工程で、p型Si基板101上に、LOCOS法により、活性領域を取り囲む素子分離酸化膜102を形成した後、基板上にトンネル絶縁膜として機能するゲート酸化膜103を熱酸化法によって形成する。その後、6nm程度の粒径を有するナノ粒子からなるドット体104を基板上に形成する。なお、ドット体104を基板上に形成する方法については、後述する。

【0096】

次に、図8（b）に示す工程で、基板上に、スパッタ法またはCVD法により、ドット体104を埋めるSiO₂膜を堆積する。

【0097】

次に、図8（c）に示す工程で、基板上にAl膜を堆積する。続いて、フォトレジストマスクPr1を用いて、SiO₂膜およびAl膜のパターニングを行なって電極間絶縁膜となるシリコン酸化膜105及び制御ゲート電極となるAl電極106を形成する。このとき、ゲート酸化膜103のうちフォトレジストマスクPr1で覆われていない部分は除去されるので、その上のドット体104も同時に除去される。その後、フォトレジストマスクおよびAl電極106をマスクとして不純物イオンの注入を行なって、第1、第2 n型拡散層107a、107bを形成する。

【0098】

その後、図8（d）に示す工程で、周知の方法により、層間絶縁膜108の形成と、層間絶縁膜108へのコンタクトホール109の開口と、コンタクトホール109内へのタングステンの埋め込みによるタングステンプラグ110の形成と、第1、第2アルミニウム配線111a、111bの形成とを行なう。

【0099】

本実施形態では、基板としてp型Si基板を用いたが、n型Si基板を用いてもよく、さらに、GaAsをはじめとする化合物半導体その他の半導体により構成される基板を用いてもよい。

【0100】

次に、図8（a）に示す工程において、ドット体104を基板上に形成する方法を、図9および図10を参照しながら以下に説明する。なお、ドット体104を基板上に形成する方法は、以下に説明する方法には限定されず、他の公知の方法を適用することも可能である。

【0101】

まず、図9（a）に示す工程で、上記実施形態1で得られたナノ粒子-タンパク質複合体（以下、複合体と略す）150を用意し、この複合体150を基板1

30の表面上に配置する。このことによって、複合体150が基板130の表面上に高密度、且つ高精度で配置された複合体膜が形成される。なお、基板130とは、図8(a)に示す工程で、p型Si基板101上に、LOCOS法により、活性領域を取り囲む素子分離酸化膜102を形成した後、基板上にトンネル絶縁膜として機能するゲート酸化膜103が熱酸化法によって形成されたものを指す。以下の説明においても同様である。

【0102】

次に、図9(b)に示す工程で、複合体150のうちのタンパク質140を除去して、ナノ粒子104aのみを残存させることによって、基板130上にドット体104を形成する。

【0103】

ここで、図9(a)に示す工程において、複合体150を基板130の表面上に高密度、且つ高精度で配置する、すなわち、基板130の表面上に2次元状に配列および固定する方法について説明する。本実施形態では、以下に、特開平11-45990号公報に記載の方法を図10を参照しながら説明する。

【0104】

まず、図10(a)に示すように、複合体150を分散した液体160を用意する。本実施形態では、液体160として、20mMのNaCl溶液と20mMのMES緩衝溶液との混合液(pH5.8)にナノ粒子-タンパク質複合体を分散した液体を用いる。なお、MESとは2-モルホリノエタンスルホン酸を意味する。

【0105】

続いて、図10(b)に示すように、PBLH(Poly-L-Benzyl-L-Histidine)を注射器などで静かに液体160の表面に展開する。このことによって、液体160の表面にPBLHからなるポリペプチド膜170が形成される。この後、液体160のpHを調節しておく。

【0106】

次に、図10(c)に示すように、時間の経過に伴って複合体150がポリペプチド膜170に付着し、複合体150の2次元結晶ができる。これは、ポリペ

プチド膜 170 が正電荷を帯びているのに対し、複合体 150 は負電荷を帯びているからである。

【0107】

次に、図 10 (d) に示すように、ポリペプチド膜 170 上に基板 130 を載置して（浮かべて）、ポリペプチド膜 170 を基板 130 に付着させる。

【0108】

次に、図 10 (e) に示すように、基板 130 を取り出せば、ポリペプチド膜 170 を介して、複合体 150 の 2 次元結晶が付着した基板 130 を得ることができる。

【0109】

次に、図 9 (b) に示す工程をさらに詳細に説明する。

【0110】

タンパク質は一般に熱に弱いので、複合体 150 のうちのタンパク質 140 の除去は、熱処理によって行なう。例えば、窒素等の不活性ガス中において、400～500℃にて、約 1 時間静置すると、タンパク質 140 およびポリペプチド膜 170 が焼失し、基板 130 上にはナノ粒子 104a が 2 次元状に、高密度で、且つ高精度で規則正しく配列したドット体 104 として残存する。

【0111】

以上のようにして、図 9 (b) に示すように、複合体 150 に保持させたナノ粒子 104a を、基板 130 上に 2 次元状に出現させ、高密度且つ高精度に配列したドット体 104 を形成することができる。

【0112】

図 8 (d) に示すように、本実施形態のメモリセル 100 は、制御ゲートとして機能する A1 電極 106 と、ソースまたはドレインとして機能する第 1、第 2 n 型拡散層 107a、107b とからなる MOS トランジスタ（メモリセルトランジスタ）を備え、フローティングゲートとして機能するドット体 104 に蓄えられた電荷の量で上記メモリトランジスタの閾値電圧が変化することを利用した不揮発性メモリセルである。

【0113】

この不揮発性メモリセルは、二値を記憶するメモリとしての機能が得られるが、ドット体104に蓄えられる電荷の有無のみだけでなく電荷の蓄積量を制御することで、三値以上の多値メモリを実現することもできる。

【0114】

データの消去の際には、酸化膜を介したFN (Fowler-Nordheim) 電流や直接トンネリング電流を利用する。

【0115】

また、データの書き込みには、酸化膜を介したFN電流や直接トンネリング電流あるいはチャネルホットエレクトロン (CHE) 注入を用いる。

【0116】

本実施形態の不揮発性メモリセルでは、フローティングゲートが量子ドットとして機能できる程度に粒径の小さいナノ粒子により構成されているので、電荷の蓄積量がわずかである。したがって、書き込み、消去の際の電流量を小さくでき、低消費電力の不揮発性メモリセルを構成することができる。

【0117】

また、本実施形態の不揮発性メモリセルでは、フローティングゲートを構成するナノ粒子の粒径が均一であるため、電荷の注入、引き抜きの際の特性が各ナノ粒子間で揃っており、これらの操作において制御が容易に行なえる。

【0118】

上記のメモリセルの製造において、図8 (b) に示す工程で、ドット体104を埋め込むようにSiO₂膜105を堆積する際には、スパッタ法が用いられることが多い。

【0119】

これまでにアポフェリチンを用いて得られている鉄、コバルト等のナノ粒子はアポフェリチンの内部では酸化物として存在する。このため、鉄、コバルト等のナノ粒子を利用してドット体を形成する場合、図8 (b) に示す工程においてナノ粒子を電荷保持特性を有するドット体とするためには、ナノ粒子を還元する必要がある。

【0120】

しかしながら、本実施形態で用いる、上記実施形態1によって得られるCdSe、ZnSe、CdS、ZnS、FePtおよびCoPt等からなるナノ粒子は、還元しなくとも電気保持特性を備えている。このため、ナノ粒子の還元工程を行なう必要がなくなる。従って、ドット体形成の際のコストを下げる事が可能になる。

【0121】

(その他の実施形態)

上記実施形態3で示したように、本発明によれば、ナノ粒子を基板上にナノメートルスケールで集積することも可能である。従って、例えば、蛍光を生じる半導体ナノ粒子間における光エネルギーの授受を利用する演算素子を作製することも可能であると考えられる。

【0122】

【発明の効果】

本発明によれば、粒径が均一なナノ粒子が得られる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、アポフェリチンの構造を示す模式図である。

【図2】

図2は、半導体ナノ粒子の製造方法を表すフローチャートである。

【図3】

図3は、図2に示すステップSt1およびステップSt2を表す模式図である。

【図4】

図4は、図2に示すステップSt2において起こっていると思われる反応を表す模式図である。

【図5】

図5(a)～(c)は、ナノ粒子の形成状態を表す電子顕微鏡写真である。

【図6】

図6(a)および(b)は、異なる粒径の半導体ナノ粒子を細胞のアクチンフ

ィラメントと核とにそれぞれ結合させた状態を表す模式図である。

【図 7】

図 7 (a) および (b) は、抗体を利用して半導体ナノ粒子－タンパク質複合体でタンパク質をラベルする方法を表す模式図である。

【図 8】

図 8 (a) ～図 8 (d) は、不揮発性メモリセルの製造方法を示す工程断面図である。

【図 9】

図 9 は、ドット体を基板の表面上に 2 次元状に配列および固定する方法を示す工程断面図である。

【図 10】

図 10 は、複合体を基板の表面上に 2 次元状に配列および固定する方法について説明する図である。

【符号の説明】

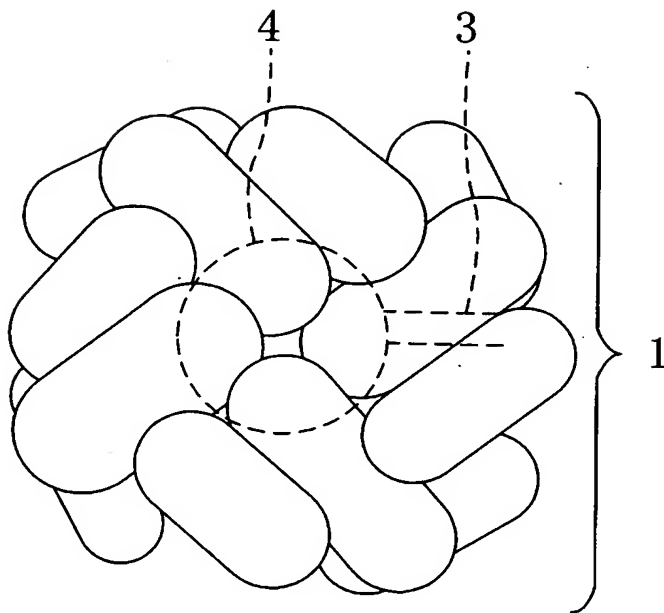
- 1 アポフェリチン
- 3 チャネル
- 4 保持部
- 4 a 半導体ナノ粒子
- 11 Dps タンパク質
- 14 a 半導体ナノ粒子
- 100 メモリセル
- 101 p 型 Si 基板
- 102 素子分離酸化膜
- 103 ゲート酸化膜
- 104 ドット体
- 104 a ナノ粒子
- 105 シリコン酸化膜
- 106 Al 電極
- 107 a 第 1 n 型拡散層

- 1 0 7 b 第 2 n 型拡散層
- 1 0 8 層間絶縁膜
- 1 0 9 コンタクトホール
- 1 1 0 タングステンプラグ
- 1 1 1 a 第 1 アルミニウム配線
- 1 1 1 b 第 2 アルミニウム配線
- 1 3 0 基板
- 1 4 0 タンパク質分子
- 1 5 0 ナノ粒子-タンパク質複合体
- 1 6 0 液体
- 1 7 0 ポリペプチド膜

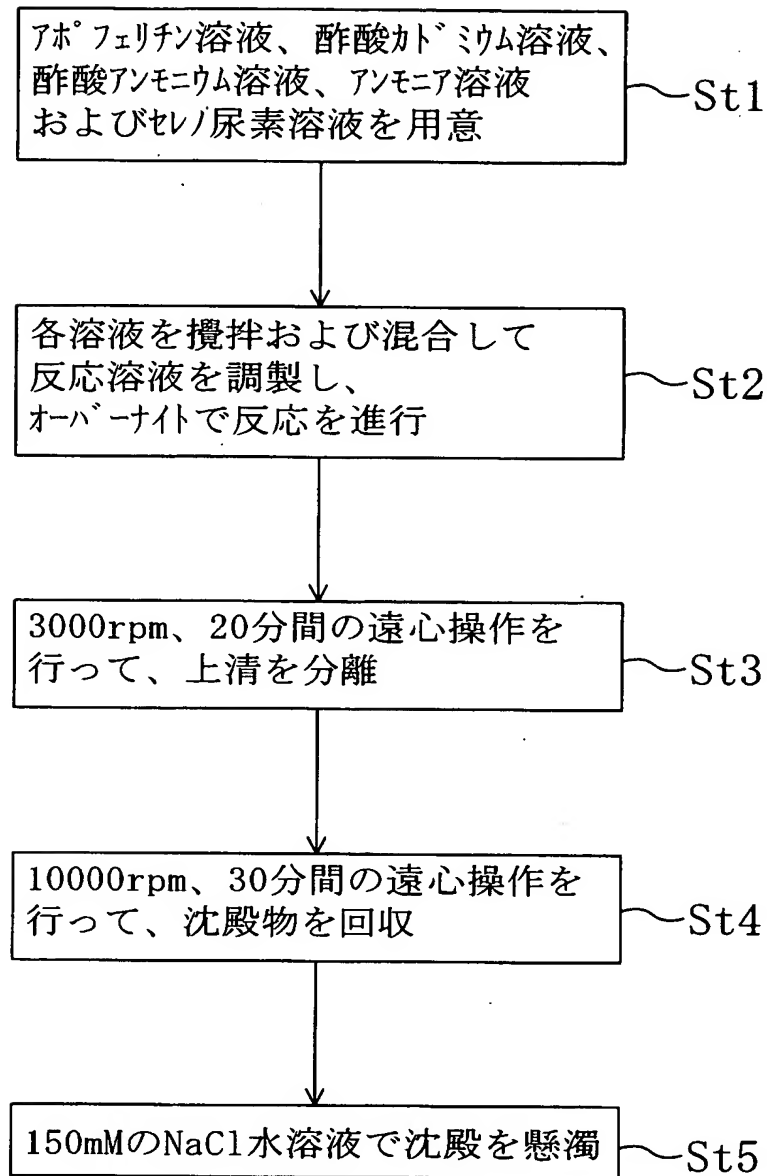
【書類名】

図面

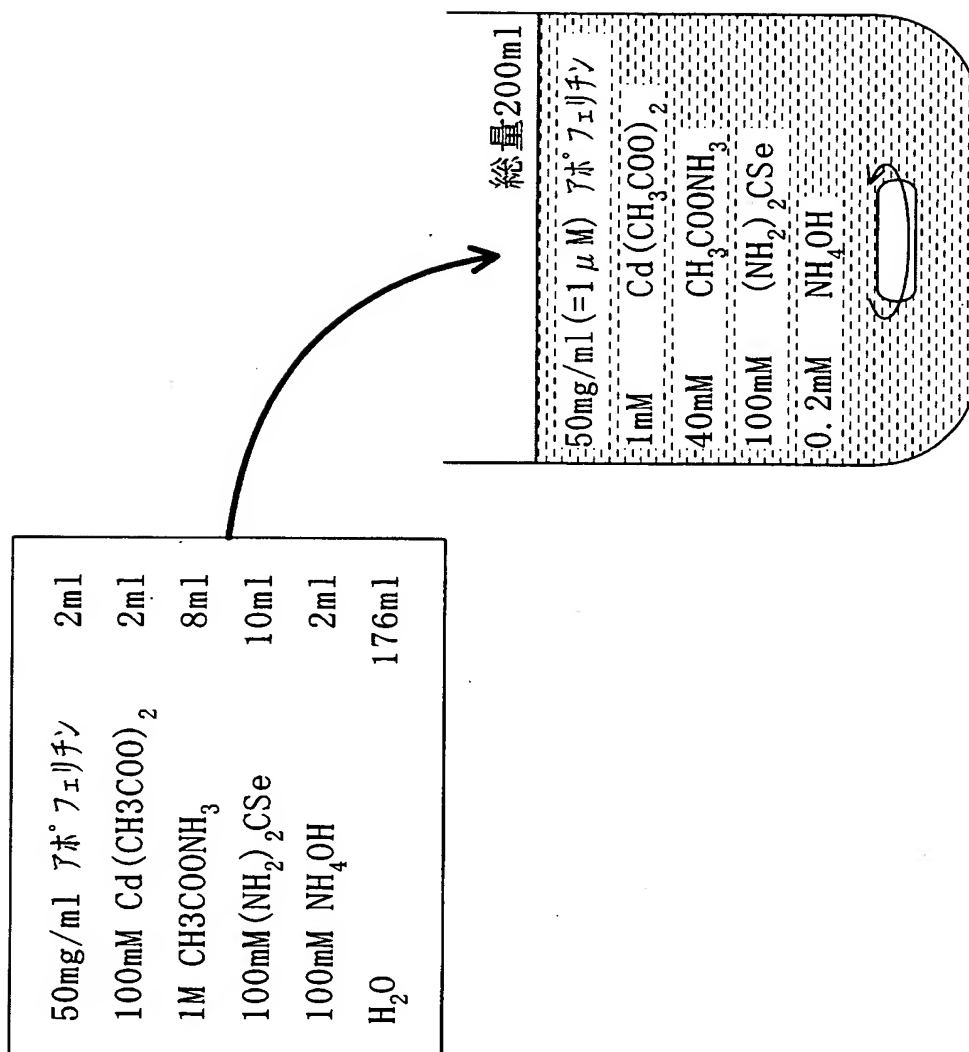
【図 1】



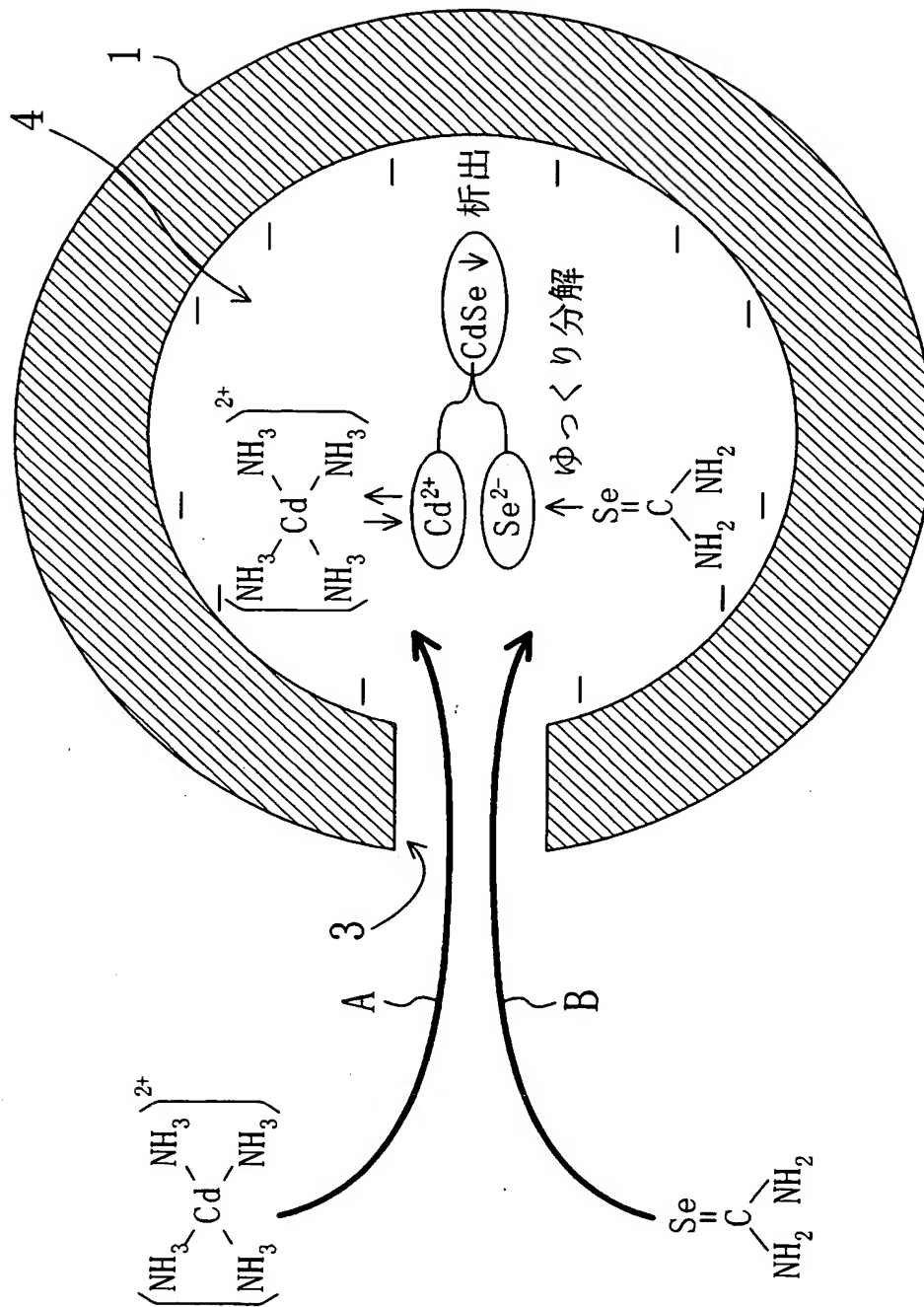
【図 2】



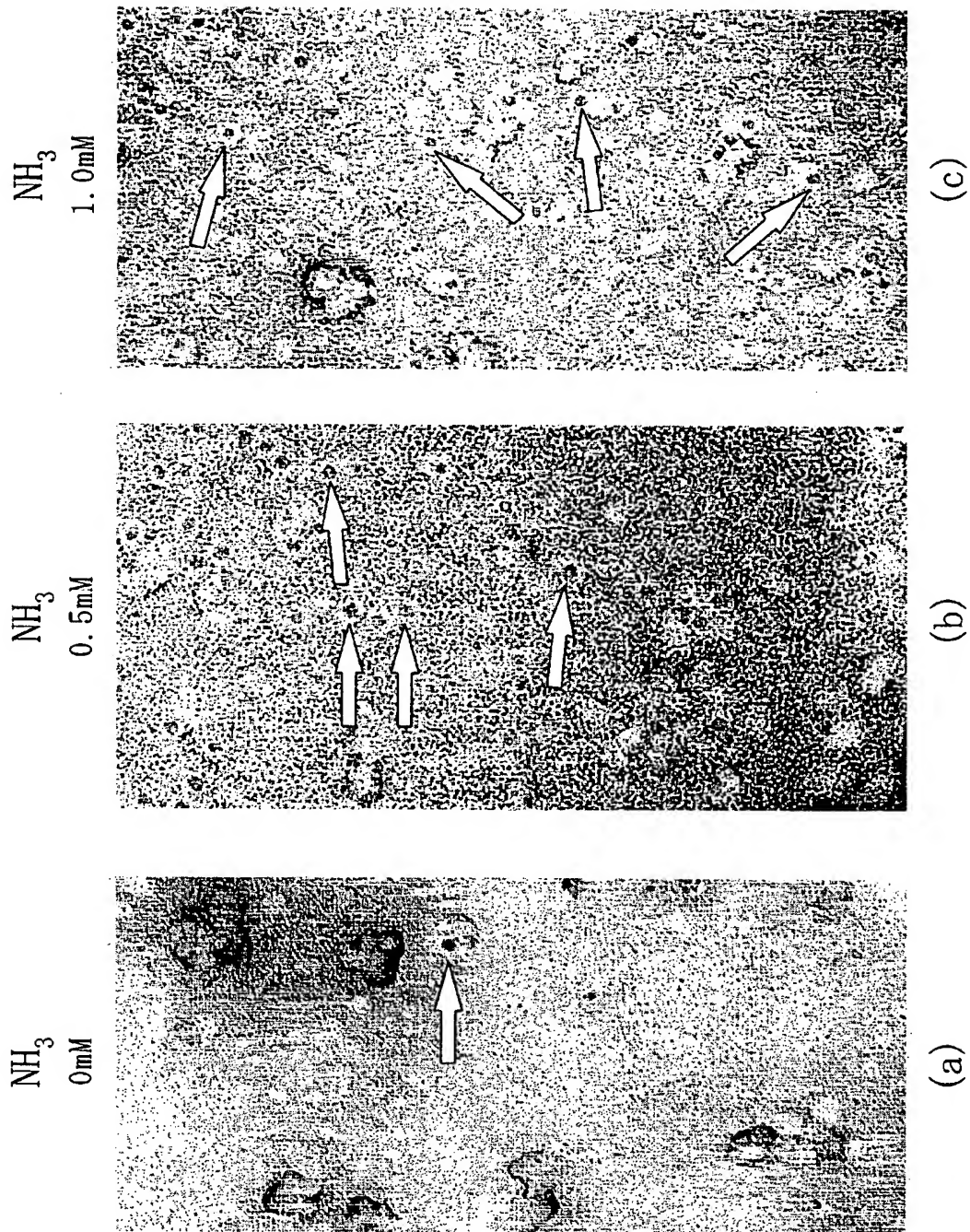
【図 3】



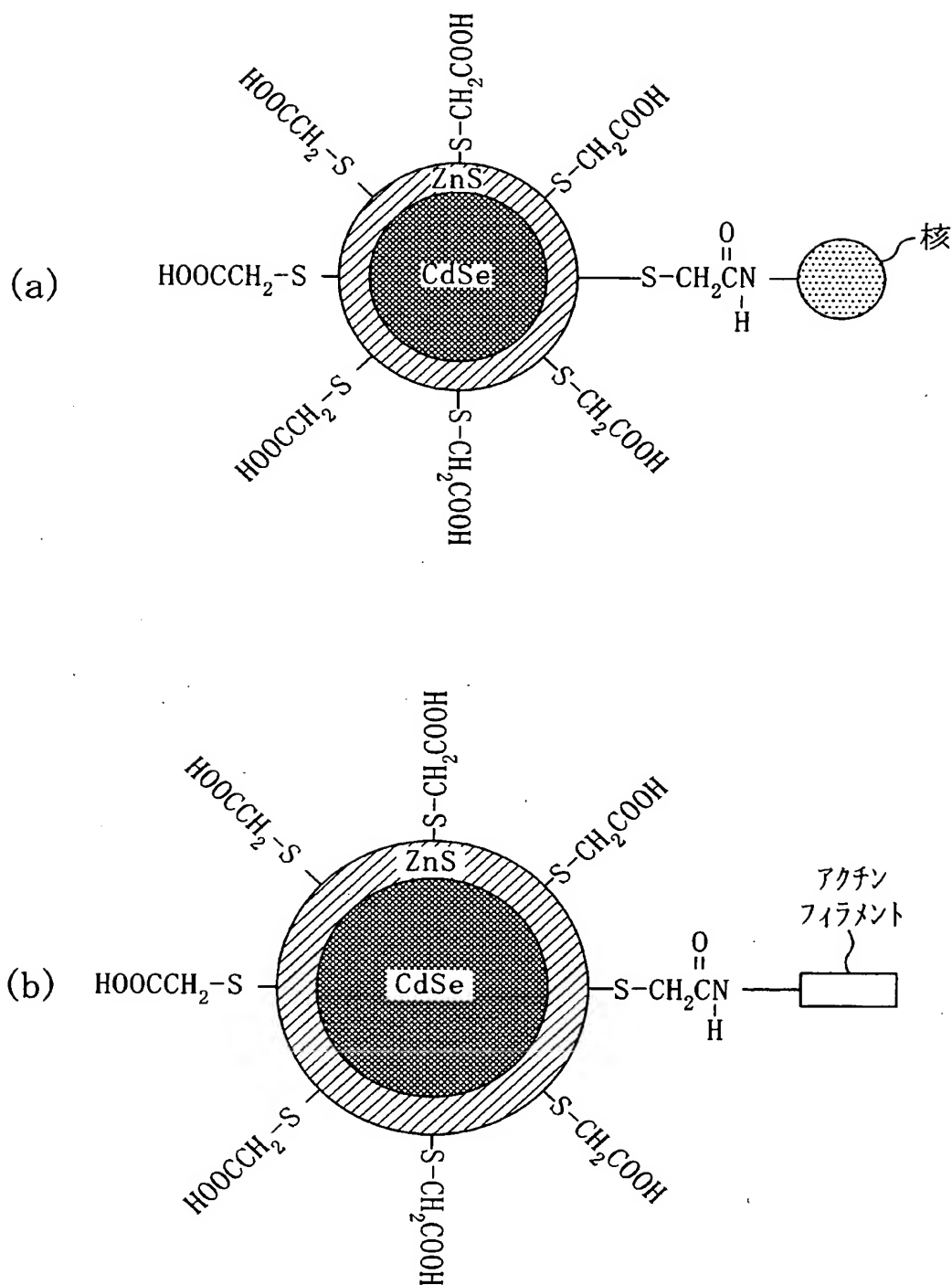
【図 4】



【図 5】

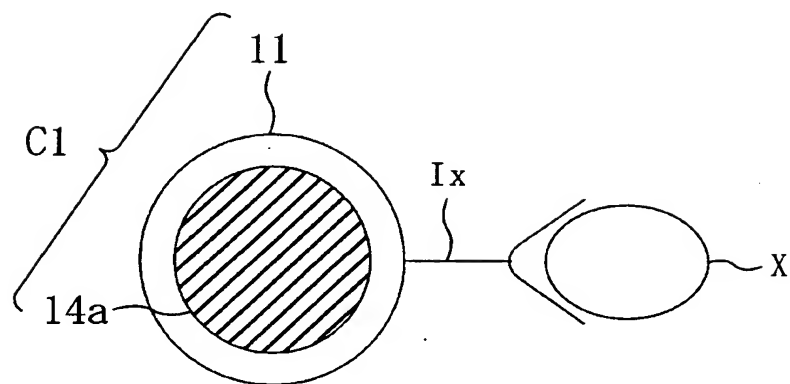


【図 6】

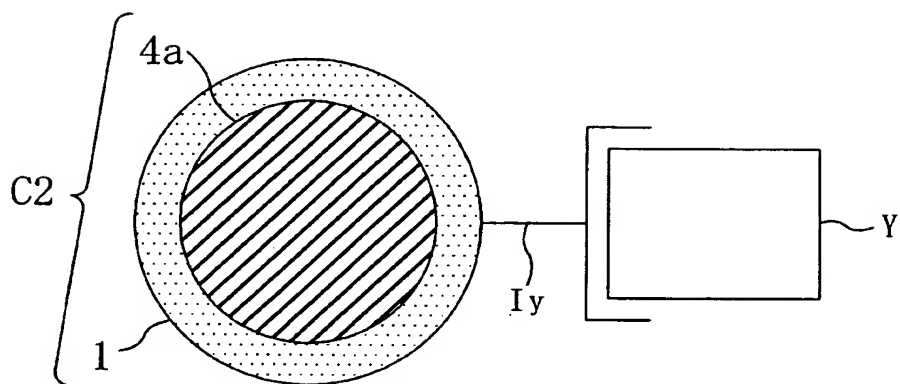


【図 7】

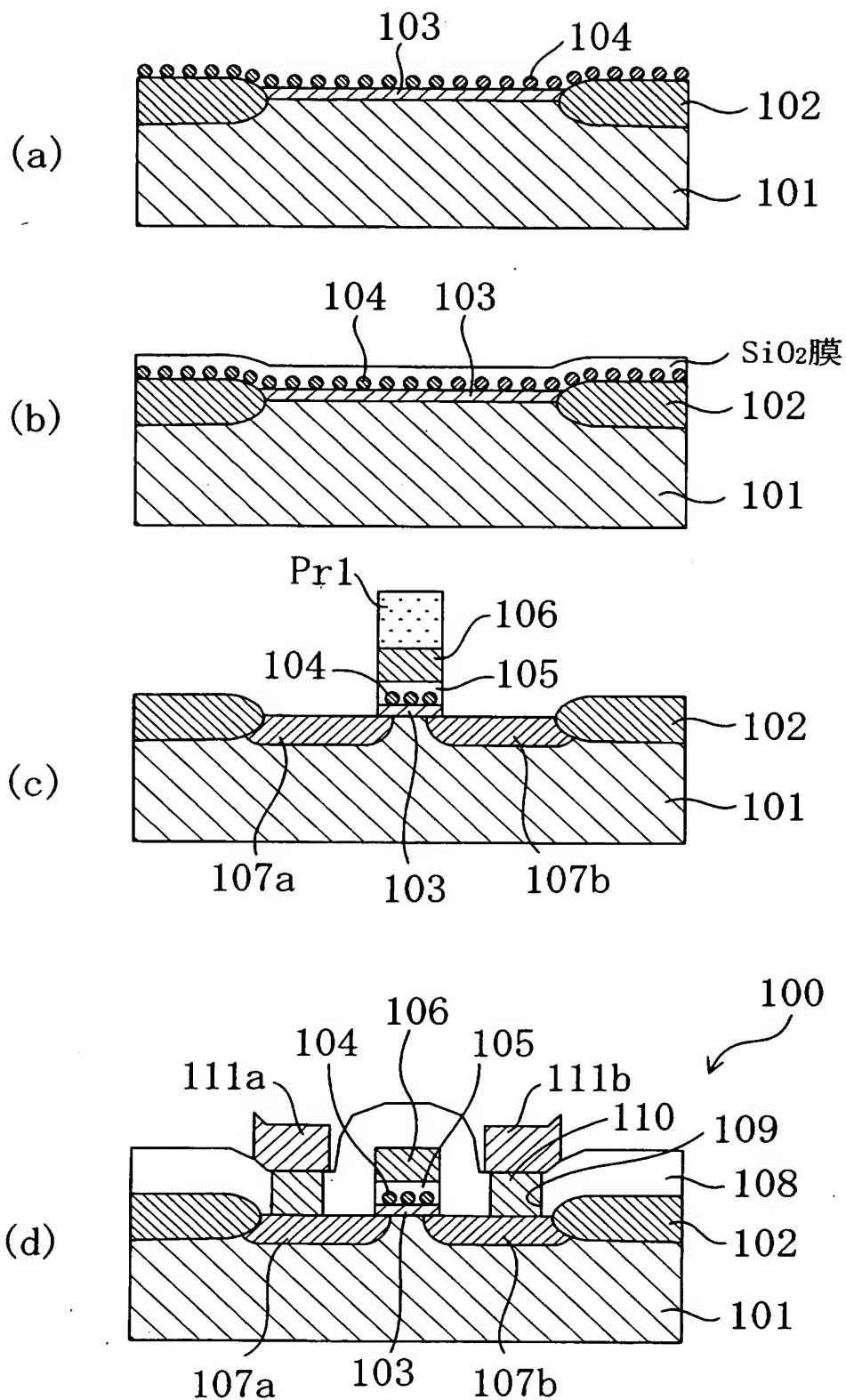
(a)



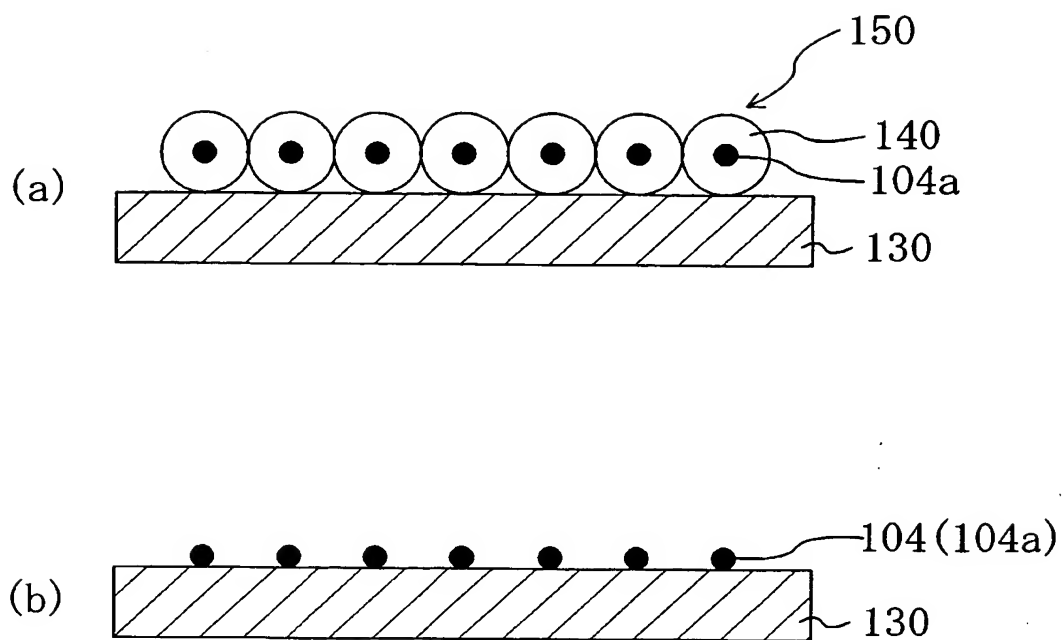
(b)



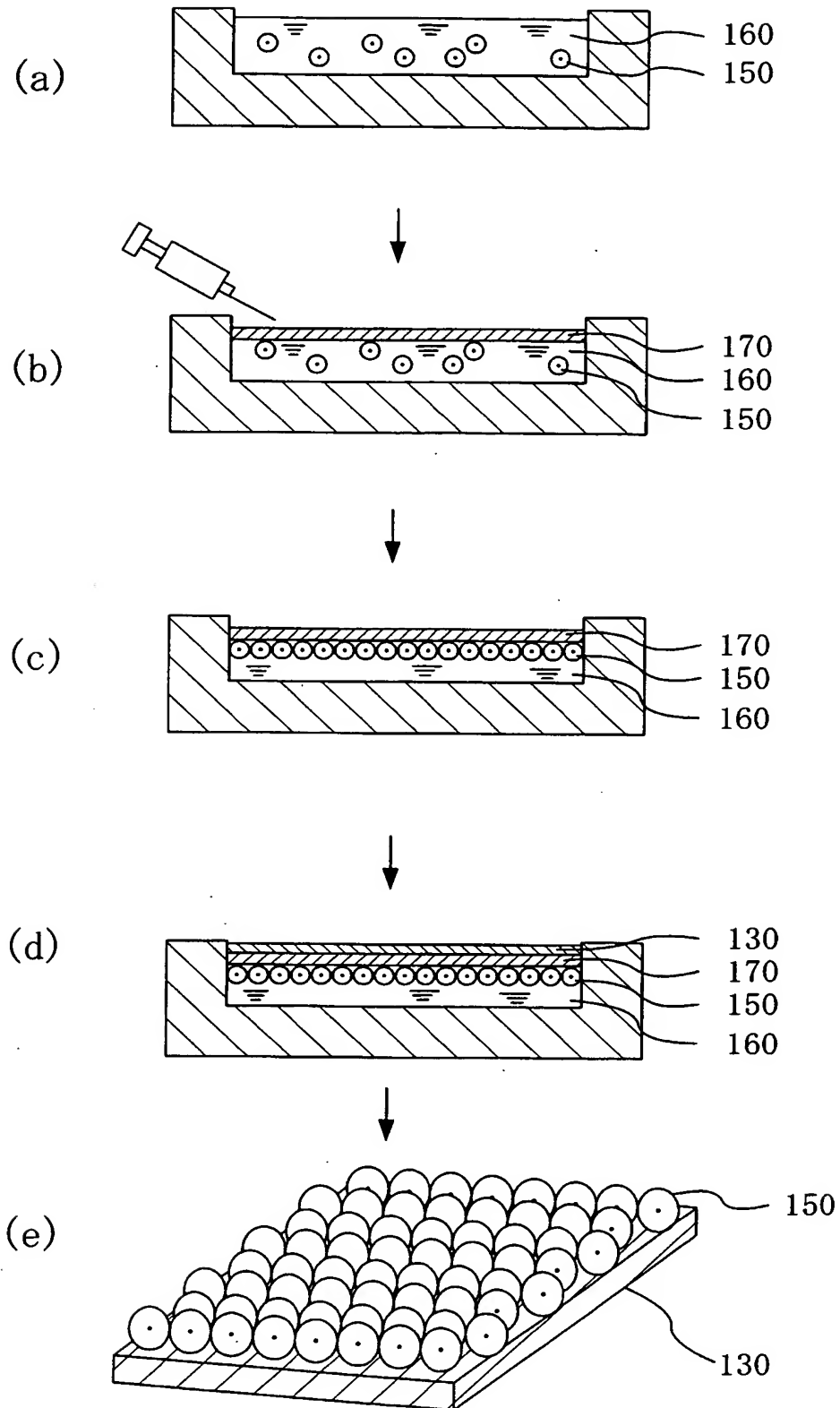
【図 8】



【図 9】



【図 10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 粒径が均一なナノ粒子を提供する。

【解決手段】 まず、ステップ S t 1 において、50 mg/ml のアポフェリチン溶液、100 mM の酢酸カドミウム溶液、1 M の酢酸アンモニウム溶液、100 mM のアンモニア水を用意する。また、少量のエタノール（10 μ l 程度）にセレノ尿素を溶解させ、これを100 mM濃度になるように純水を加えて100 mMのセレノ尿素溶液を用意する。次に、ステップ S t 2 において、上記ステップ S t 1 で用意した各溶液を混合し、全体の容量が200 ml になるまで純水を加えることによって、反応溶液を調製する。続いて、反応溶液の攪拌を一昼夜に亘って行なう。この操作により、アポフェリチンの保持部内に Cd Se が導入され、アポフェリチンと Cd Se からなる半導体ナノ粒子との半導体ナノ粒子-タンパク質複合体（以下、単に複合体と称する）が生成される。次に、ステップ S t 3 において、反応溶液を容器に入れ、遠心分離機を用いて毎分3000回転、20分の条件で遠心分離し、沈殿を除去する。次に、ステップ S t 4 において、沈殿を除去した後の上澄み液をさらに毎分10000回転、30分の条件で遠心分離し、複合体を沈殿させる。次に、ステップ S t 5 において、上記ステップ S t 4 で得られた沈殿を150 mMの NaCl 溶液に懸濁し、複合体溶液を作製する。

【選択図】 図2

特願 2 0 0 2 - 1 5 4 7 7 8

出 願 人 履 歷 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 5 8 2 1]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 8 日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地

氏 名

松下電器産業株式会社